

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
13. Januar 2005 (13.01.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/003385 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C12Q 1/68**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2004/002680

(22) Internationales Anmeldedatum:  
15. März 2004 (15.03.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
03015027.0 2. Juli 2003 (02.07.2003) EP

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): LABOR BECKER OLGEMOELLER & KOLLEGEN GBR [DE/DE]; Fuehrichstrasse 70, 81671 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BURGGRAF, Siegfried [DE/DE]; Wildmoosstrasse 5, 82194 Groebenzell (DE).

(74) Anwalt: LEONHARD OLGEMOELLER FRICKE; Postfach 10 09 62, 80083 München (DE).

(54) Title: METHOD FOR DETECTING NUCLEIC ACIDS WITH INTERNAL CONTROL OF THE AMPLIFICATION

(54) Bezeichnung: DETEKTIONSSVERFAHREN FUER NUCLEINSÄUREN MIT INTERNER AMPLIFIKATIONSKONTROLLE

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

**WO 2005/003385 A1**

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for the qualitative or quantitative detection of a nucleic acid in a sample by amplifying said nucleic acid and using at least one detection probe that can be reversibly bound to the amplifiable/amplified nucleic acid, enabling the nucleic acid to be detected. Said method is carried out in the sample in the presence of a control nucleic acid which is also to be amplified, and binds to the same detection probe(s) as the nucleic acid to be detected, but has differences in the nucleotide sequence in relation to the nucleic acid to be detected in the binding region of the probe(s). The differences are such that the products of the nucleic acid to be detected and the probe(s), and the control nucleic acid and the probe(s), have a different melting point, the temperature difference between the melting points being sufficiently large to be able to analytically differentiate between the two products. The invention also relates to control nucleic acids that can be used for said method, and kits consisting of such nucleic acids with at least one corresponding probe.

(57) **Zusammenfassung:** Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zum qualitativen oder quantitativen Nachweis einer Nucleinsäure in einer Probe mittels Amplifikation dieser Nucleinsäure und unter Verwendung einer oder mehrerer Detektions-Sonde(n), die reversibel an die amplifizierbare/amplifizierte Nucleinsäure binden kann/können und aufgrund dieser Eigenschaft eine Detektion der nachzuweisenden Nucleinsäure ermöglichen. Das Verfahren wird in Gegenwart einer ebenfalls zu amplifizierenden Kontroll-Nucleinsäure in dieser Probe durchgeführt, die dieselbe(n) Detektions-Sonde(n) wie die nachzuweisende Nucleinsäure bindet, aber im Bindungsbereich der Sonde(n) im Vergleich zur nachzuweisenden Nucleinsäure Abweichungen in der Nucleotid-Sequenz aufweist. Die Abweichungen sind derart, dass die Produkte aus nachzuweisender Nucleinsäure und Sonde(n) einerseits und Kontroll-Nucleinsäure und Sonde(n) andererseits einen unterschiedlichen Schmelzpunkt aufweisen, wobei die Temperaturdifferenz der Schmelzpunkte ausreichend groß ist, um die beiden Produkte analytisch voneinander unterscheiden zu können. Die Erfindung betrifft weiterhin für dieses Verfahren verwendbare Kontroll-Nucleinsäuren sowie Kits aus solchen Nucleinsäuren mit einer oder mehreren entsprechenden Sonde(n).